



TITLE:

Studies on the metabolism of kynurenic acid
Enzymic formation of 7,8-
dihydroxykynurenic acid from kynurenic
acid(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Taniuchi, Hiroshi

CITATION:

Taniuchi, Hiroshi. Studies on the metabolism of kynurenic acid Enzymic formation of 7,8-dihydroxykynurenic acid from kynurenic acid. 京都大学, 1962, 医学博士

ISSUE DATE:

1962-03-23

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/210848>

RIGHT:

氏 名	谷 内 尚 たに うち ひろし
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医 博 第 6 7 号
学位授与の日付	昭 和 37 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専 攻	医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Studies on the metabolism of kynurenic acid Enzymic formation of 7,8-dihydroxykynurenic acid from kynurenic acid (キヌレン酸代謝の研究 キヌレン酸より7,8-ジヒドロキシキヌレン酸の酵素的生成)
論文調査委員	(主 査) 教 授 早 石 修 教 授 山 田 肇 教 授 島 本 暉 朗

論 文 内 容 の 要 旨

キヌレン酸はトリプトファンの重要な代謝産物の一つであることは古く Ellinger によって証明されたが、それ以後の代謝経路は全く不明であった。早石および共同研究者らは最近トリプトファンに適応した緑膿菌よりキヌレン酸を分解する無細胞抽出液を得ることに成功した。以来、キヌレン酸代謝の研究が上記の人々によってなされた。まず放射性キヌレン酸を用いた実験によって、キヌレン酸は、グルタミン酸、アラニン醋酸等に転化するが、その際得られた放射性グルタミン酸の標識炭素の位置を調べた結果、キヌレン酸のベンゼン核はそのままグルタミン酸の炭素鎖を与えるが、キノリン核は複雑な機構によってグルタミン酸に取り込まれるであろうということがわかった。

本論文においてキヌレン酸よりグルタミン酸に至る代謝経路の初期の過程が部分的に精製した酵素を用いて明らかにされ、さらに新しい型の水酸化反応機構が示された。トリプトファンに適応した緑膿菌を音波破碎し、 $105,000 \times g$ 1時間遠心を行ない得られた上清の粗酵素液を $0.01M$ システイン存在下に、硫安分画すると $40-55\%$ の間にキヌレン酸を酸化する酵素が分画される。この硫安分画と DPNH あるいは TPNH とグルコース、グルコース脱水素酵素を含む溶液にキヌレン酸を加え分光学的に追跡すると、キヌレン酸は変化して新たな物質を生じる。この反応には金属の中 2 価鉄のみが促進作用を有する。化学量論的には 1 分子のキヌレン酸は 1 分子の DPNH あるいは TPNH と 1 分子の酸素を消費して 1 分子の新物質を生じることが見いだされた。大量のキヌレン酸を上記の反応系で反応させ、蓄積した新物質をイオン交換樹脂、ペーパクロマトで単離した。この新物質は分光学的にもペーパクロマトや電気泳動によって 7 あるいは 8-ヒドロキシキヌレン酸と区別され、また、特有なフェノール基の呈色反応を示さない。酸性では不安定で 8-ヒドロキシキヌレン酸に変化する。さらに、酵素的に脱水素されて、7, 8-ジヒドロキシキヌレン酸となるがその反応および上記の反応の化学量論的結果と上記の性質からこの新物質はキヌレン酸 7, 8-ジヒドロ 7, 8-ジオール誘導体と推定される。このキヌレン酸から新物質に至る酵素反応の分光学的変化の解析およびポーラログラフによる酸素消費の経過の解析によってさらに中間体の存在することが

推定された。この最初の反応は酸素添加酵素によると考えられるが、この酵素は SH 阻害剤によって影響を受け酸素によって不活性化される。7-ヒドロキシあるいは8-ヒドロキシキノレン酸を上記反応系の基質とするとジヒドロジオールとはならず、7,8-ジヒドロキシキノレン酸を生じるが、しかもその反応はキノレン酸によっておそらくは拮抗的に阻害される。この事実は、キノレン酸よりジヒドロジオールを生じる反応と7-あるいは8-ヒドロキシキノレン酸の水酸化反応との間に密接な関係のあることを暗示している。上記の単離した新物質は上記硫安画分と、DPN とを加えて反応させると、1分子の新物質は、1分子の DPNH を生じて1分子の7,8-ジヒドロキシキノレン酸となる。また、キノレン酸を上記硫安画分と DPNH および2価鉄とともに反応させると7,8-ジヒドロキシキノレン酸が蓄積するので、これを大量に反応させて、7,8-ジヒドロキシキノレン酸を反応液より、イオン交換樹脂を用いて分離し、結晶として単離し元素分析、融点、紫外および赤外吸収スペクトル、電気泳動等より、同定した。7,8-ジヒドロキシキノレン酸は粗酵素液によって強い黄色の物質を生じやがてこの黄色の物質は消失する。以上よりキノレン酸はジヒドロジオール誘導体を経て7,8-ジヒドロキシキノレン酸となつて、代謝されることが明かになり、さらに芳香核の隣り合った二つの炭素に同時に水酸基のはいる反応は、新しい型の酸素添加酵素による反応と既に報告されているジヒドロジオール脱水素酵素と類似の酵素による反応との組み合わせによって起こる場合のあることが明かにされた。

論文審査の結果の要旨

キノレン酸はトリプトファンの重要な代謝産物の一つであるが、そのものの自体の代謝経路については従来全く不明であった。それはキノレン酸を分解する酵素を細胞外に取り出すことができなかったためである。近年早石およびその共同研究者らがトリプトファンに適応した緑膿菌よりキノレン酸分解酵素液を取り出すことに成功し、代謝経路研究の道が開けたが、本論文はその代謝経路のはじめの過程を明らかにしたものである。すなわち粗酵素液を部分精製したものをを用いて、助酵素を添加して、キノレン酸を反応させ、生じた中間体を分離同定することによって、キノレン酸はまず分子状酸素と還元型ピリジヌクレオチドとを等モル消費して7,8-ジヒドロキシキノレン酸7,8-ジオールと推定されるものに変化し、さらに等モルの脱水素をうけて7,8-ジヒドロキシキノレン酸を生成することが明らかになった。

本研究により、キノレン酸が代謝されるさいにその7位および8位の炭素原子にまず水酸化を受けることが明らかになったばかりでなく、生体内で芳香族環の炭素原子に水酸基のはいる反応、いわゆる水酸化反応において隣りあった二つの炭素原子が同時に水酸化される場合には一つ一つの水酸化反応の繰り返しによるのではなく、新しい酸素添加酵素によりまずジヒドロジオール体を生じた後、脱水素反応によってふたたび芳香族化されてジヒドロキニ体となる新しい型の水酸化反応の存在することが証明された。これは以前肝臓に発見されていたベンゼングリコールを脱水素してカテコールを生じる酵素の存在に生物学的な一つの意味を与えたものである。

このように、本研究はキノレン酸代謝経路について重要な新知見を加え、学術上貢献するところが少なくない。したがって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認定した。